

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.10.010

文章编号: 1005-8982(2016)10-0045-06

论著

成纤维细胞生长因子受体 2 基因 rs1219648 位点多态性与青海回族女性乳腺癌易感性的关联研究*

沈国双, 郑方超, 赵久达

(青海大学附属医院 乳腺甲状腺外科, 青海 西宁 810016)

摘要:目的 探究成纤维细胞生长因子受体 2(*FGFR2*)基因 rs1219648 位点单核苷酸多态性(SNP)与青海地区回族女性乳腺癌易感性的关系。**方法** 采用病例对照研究,利用 TaqMan-MGB 探针法对青海地区 110 例回族女性乳腺癌病例和 110 例正常回族女性对照进行 *FGFR2* 基因 rs1219648 位点基因型检测,利用多元 Logistic 回归分析该位点不同基因型与乳腺癌易感性之间的关系。**结果** *FGFR2* 基因 rs1219648 位点基因型频率在病例组和对照组之间的差异具有统计学意义($P=0.001$)。*FGFR2* 基因 rs1219648 位点 A>G 改变可以显著的增加青海地区回族女性人群乳腺癌易感性。其中,在校正初潮年龄、是否绝经、乳腺良性疾病史和乳腺癌家族史因素后,该位点 A>G 的改变仍可以显著增加该地区回族女性人群乳腺癌患病风险($OR_{AG-GG/AA}=2.37, 95\%CI:1.18, 4.73$)。**结论** *FGFR2* 基因 rs1219648 位点 A>G 改变可显著增加青海地区回族女性乳腺癌的患病风险,预期可以作为该地区女性乳腺癌易感性的重要生物标志物。

关键词: *FGFR2* 基因;乳腺癌;回族;单核苷酸多态性;生物标志物

中图分类号: R737.9

文献标识码: A

Single nucleotide polymorphism of *FGFR2* gene rs1219648 and susceptibility of breast cancer in female Muslim population of Qinghai province*

Guo-shuang Shen, Fang-chao Zheng, Jiu-da Zhao

(Department of Breast and Thyroid Surgery, the Affiliated Hospital, Qinghai University, Xining, Qinghai 810016, China)

Abstract: Objective To explore the association between single nucleotide polymorphism (SNP) of fibroblast growth factor receptors 2 (*FGFR2*) gene rs1219648 and susceptibility of breast cancer in female Muslim population of Qinghai province. **Methods** Using case-control study, the genotypes of *FGFR2* gene rs1219648 were detected by denaturing high performance liquid chromatography (dHPLC) among 110 breast cancer cases and 110 healthy controls. Multivariable logistic regression models were performed to estimate the odds ratios and 95% confidence intervals. **Results** There was a statistically significant difference in genotype frequencies of *FGFR2* gene rs1219648 between the cases and the controls ($P = 0.001$). The mutation from A to G of *FGFR2* gene rs1219648 was significantly associated with an increased susceptibility of breast cancer among female Muslim population in Qinghai province; this still existed after additional adjustment for age at first menstruation (> 13 years of age), menopausal status, history of benign breast diseases and family history of breast cancer ($OR_{AG-GG/AA} = 2.37, 95\% CI: 1.18, 4.73$). In stratified analyses, this effect was more evident among Muslim population with age of first menstruation older than 13, premenopause, no history of benign breast diseases and no family history of breast cancer. **Conclusions** These findings suggest that the single nucleotide polymorphism of *FGFR2* gene rs1219648 may contribute to the susceptibility of

收稿日期: 2015-12-24

* 基金项目: 教育部春晖计划项目 (No: Z20100063)

[通信作者] 赵久达, E-mail: 13109708777@163.com

breast cancer among female Muslim population in Qinghai province, and it might be also served as a potential biomarker for diagnosis of breast cancer.

Keywords: *FGFR2* gene; breast cancer; Muslim; SNP; biomarker

乳腺癌是我国最主要的恶性肿瘤之一,其发病率高居城乡女性首位,是危害居民生命健康的主要恶性肿瘤之一,且我国居民乳腺癌的发病率在近十几年总体呈上升趋势^[1]。2004~2005年第3次全国全死因调查结果显示,青海省乳腺癌的粗死亡率为全国平均水平,但恶性肿瘤粗死亡率高居全国第3位^[2]。因此,针对该地区女性乳腺癌开展相关研究显得势在必行。近年来的研究发现,成纤维细胞生长因子受体(fibroblast growth factor receptors,FGFRs)家族在肿瘤发生过程中起到举足轻重的作用^[3]。其中,成纤维细胞生长因子受体2(fibroblast growth factor receptors 2,FGFR2)被发现在乳腺癌的组织和细胞系中存在过表达现象,而且越来越多的研究证实了*FGFR2*基因过表达与乳腺癌发病之间的关联^[4-6]。目前关于*FGFR2*基因rs1319648位点多态性与乳腺癌之间的关联已在贵州地区汉族人群^[7]和宁夏地区汉族人群^[8]中得到证实。此外,本研究团队早期利用青海地区60例回族女性乳腺癌患者和60例健康回族女性对照,初步探究*FGFR2*基因多态性与该地区回族女性乳腺癌患病易感性之间的关联,结果发现:携带有*FGFR2*基因rs2420946位点C>T多态性改变的回族女性其乳腺癌的患病风险增加0.7倍^[9]。考虑到不同种族人群遗传背景对乳腺癌易感性的影响不同,本研究利用病例对照研究进一步分析*FGFR2*基因rs1219648位点单核苷酸多态性与青海地区回族女性人群乳腺癌易感性之间的关联,以期为该地区女性乳腺癌的早期筛查及靶向治疗提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

收集2008年6月-2011年6月在青海大学附属医院进行治疗且无血缘关系的110名女性乳腺癌患者作为病例组。均为久居青海地区的回族女性,所有的患者都经过组织病理学确诊,且术前未进行新辅助放射治疗和抗肿瘤药物治疗,平均年龄为(48.75±9.84)岁。选取本院常规体检110名正常女性作为对照组,均为久居青海地区的回族女性,且无肿瘤病史。

所有受试对象在签署知情同意后,由经过统一培训的调查员、使用统一印制的调查表对每个研究对象进行面访调查或从病历中摘录,收集一般人口学资料、月经生育史、乳腺良性疾病史和乳腺癌家族史等信息,并采集5ml外周血液标本。病例组患者的组织病理学标本收集后立即置于液氮中迅速冷冻,然后移至-70℃冰箱保存。

1.2 试剂

全血DNA提取试剂盒、TaqDNA聚合酶、TaqMan通用PCR扩增预混试剂、无核酸水、PCR引物序列和TaqMan-MGB探针序列(均为天跟生化科技有限公司提供)。

1.3 仪器与设备

离心机(低温高速离心机、台式高速离心机和常温高速离心机)和7900实时定量PCR仪及配套分析软件(美国ABI公司)及水浴锅等。

1.4 试验方法

1.4.1 外周血DNA提取 所有血样EDTA-K2抗凝,分装后置程序降温,最终置于-80℃冰箱内保存。采用全血DNA提取试剂盒按使用说明提取并纯化全血基因组DNA。

1.4.2 TaqMan-MGB探针PCR法对*FGFR2*基因rs1219648位点进行基因型分型 根据NCBI数据库报道人类*FGFR2*基因DNA序列,利用Primer Premier5软件设计rs1219648位点PCR引物序列为:S5'-CACGCCTATTTTACTTGACACGC-3';A5'-TTTCCTCACTGTGATTTGTATGTGG-3'。Probe1'FAM-TTACTTGACACaCTC-MGB';TaqMan-MGB探针Probe2'HEX-TTACTTGACAgCTC-MGB'。反应总体积为5μl,含待测样品DNA1μl,PCR扩增预混试剂2.5μl,PCR引物0.2μl,TaqMan-MGB探针0.1μl,无核酸水1.2μl。瞬时离心2s后,放入7900HT定量PCR仪进行扩增。PCR扩增条件为TaqDNA聚合酶在95℃下活化10min,按92℃变性15s,60℃退火/延伸30s,共进行40个循环。利用7900HT定量PCR配套分析软件对扩增结果进行分析。考虑到DNA试剂盒提取DNA数量、质量和TaqMan探针进行基因分型的准确性等因素,所有标本分型完成后,随机抽取5%的标本进行DNA测序验证。

1.5 统计学方法

采用 SAS 9.1.3 统计软件进行数据分析, 计量资料采用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 采用拟合优度 χ^2 检验对正常对照组受试者基因型分布进行 Hardy-Weinberg 平衡检验。利用 *t* 检验或 χ^2 检验比较两组受试者一般人口学特征、乳腺良性疾病史、乳腺癌家族史和 *FGFR2* rs1219648 基因型分布之间的差异。比值比(odds ratio, OR)及 95%可信区间(confidence intervals, CIs) 则通过单因素和多因素 Logistic 回归模型进行估计, 用来表示相对风险度, 并对初潮年龄、绝经年龄、乳腺良性疾病史和乳腺癌家族史进行校正。所有的检验均为双侧检验, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料信息的比较分析

110 例病例组和 110 名正常对照组的平均年龄 (47.15 ± 9.47)vs(48.75 ± 9.84)、生育年龄(>30 岁, 13.64% vs 10.91%)、体重指数(>24 kg/m², 11.82% vs 10.91%)、生育次数(>2 次, 19.09% vs 21.82%)和是否具有母乳喂养史(有, 90.91% vs 82.73%)间的分布差异均无统计学意义。与正常对照组比较, 病例组初潮年龄(≤ 13 岁, 30.00% vs 11.82%)、是否绝经(60.91% vs 80.91%)、乳腺良性疾病史阳性(65.45% vs 27.27%)和乳腺癌家族史阳性(66.36% vs 36.36%)的比例均显著性升高。见表 1。

2.2 利用 TaqMan-MGB 法和 DNA 测序法进行 *FGFR2* 基因 rs1219648 位点基因分型的结果

TaqMan-MGB 探针法对 *FGFR2* 基因 rs1219648

位点基因型的分型结果和 DNA 测序结果详见图 1。其中, 图 1 为 TaqMan-MGB 探针法的分型结果, 图中横坐标为 HEX 信号强度、纵坐标为 FAM 信号强度、红色点为 GG 基因型、绿色点为 AG 基因型、蓝色点为 AA 基因型、NTC 为 No Template Control。图 2、图 3 和图 4 分别为 DNA 测序结果, 其中图 2 为 AA 基因型、图 3 为 AG 基因型、图 4 为 GG 基因型。

2.3 *FGFR2* 基因 rs1219648 位点单核苷酸多态性与青海地区乳腺癌易感性之间的关联研究

在 110 例正常对照人群中, *FGFR2* 基因 rs1219648 位点等位基因频率为 0.3545, 且该位点基因型在对照组人群中的分布符合 Hardy-Weinberg 平衡($P=0.346$), 提示对照组具有良好的代表性。

FGFR2 基因 rs1219648 位点基因型分布及其与青海回族女性乳腺癌患病易感性之间的关系, 详见表 2。如表 2 所示, 该位点基因型频率分布在对照组和病例组之间的差异具有统计学意义 ($P < 0.001$)。单因素 Logistic 回归分析结果显示, 伴有 AG、GG 或

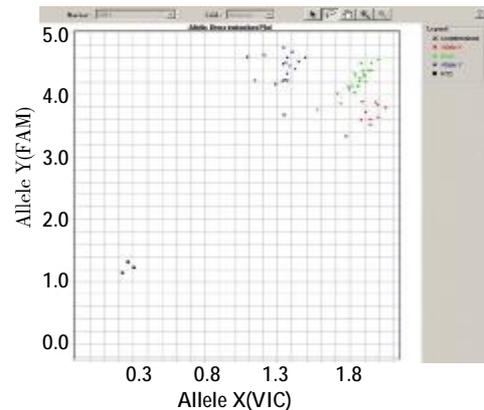


图 1 TaqMan-MGB 探针基因分型结果

表 1 患者一般资料信息比较 例(%)

组别	年龄 / (岁, $\bar{x} \pm s$)	初潮年龄 / 岁		生育年龄 / 岁		是否绝经		体重指数 I/(kg/m ²)	
		≤ 13	>13	≤ 30	>30	否	是	≤ 24	>24
对照组 (n=110)	47.15 ± 9.47	13(11.82)	97(88.18)	98(89.09)	12(10.91)	21(19.09)	89(80.91)	98(89.09)	12(10.91)
病例组 (n=110)	48.75 ± 9.84	33(30.00)	77(70.00)	95(86.36)	15(13.64)	43(39.09)	67(60.91)	97(88.18)	13(11.82)
χ^2 值	1.23	10.99		0.38		10.67		0.05	
P 值	0.220	0.001		0.538		0.001		0.832	

组别	生育次数 / 次		母乳喂养史		乳腺良性疾病史		乳腺癌家族史	
	≤ 2	>2	无	有	无	有	无	有
对照组 (n=110)	86(78.18)	24(21.82)	19(17.27)	91(82.73)	80(72.73)	30(27.27)	70(63.64)	40(36.36)
病例组 (n=110)	89(80.91)	21(19.09)	10(9.09)	100(90.91)	38(34.55)	72(65.45)	37(33.64)	73(66.36)
χ^2 值	0.25		3.22		32.24		19.81	
P 值	0.616		0.073		0.000		0.000	

AG-GG 基因型的女性相对于伴有 AA 基因型的女性, 乳腺癌的患病风险分别增加了 2.34 倍 ($OR_{AG/AA}=3.34, 95\%CI: 1.78, 6.28$)、1.88 倍 ($OR_{GG/AA}=2.88, 95\%CI: 1.28, 6.47$) 和 2.21 倍 ($OR_{AG-GG/AA}=3.21, 95\%CI: 1.76, 5.85$)。多因素 Logistic 回归分析在调整初潮年龄(>13 岁)、是否绝经、乳腺良性疾病史和乳腺癌家族史后, 发现 FGFR2 rs1219648 位点 A>G 的突变(AG-GG/AA)仍可以增加青海地区女性乳腺癌的患病风险($OR_{AG-GG/AA}=2.37, 95\%CI: 1.18, 4.73$), 提示 FGFR2 基因 rs1219648 位点 A>G 的改变可能是该地区女性人群乳腺癌患病易感性的遗传因子。

进一步进行分层分析, 分别以初潮年龄(>13 岁)、是否绝经、乳腺良性疾病史和乳腺癌家族史为分层因素, 利用多元 Logistic 回归模型对 FGFR2 基因 rs1219648 位点基因型多态性与青海地区回族女性乳腺癌患病风险进行分析, 发现在初潮年龄(>13 岁, $OR_{AG-GG/AA}=2.62, 95\%CI: 1.19, 3.76$)、绝经前 ($OR_{AG-GG/AA}=6.99, 95\%CI: 1.75, 39.00$)、乳腺良性疾病史阴性 ($OR_{AG-GG/AA}=3.55, 95\%CI: 1.31, 9.65$) 和乳腺癌家族史阴性 ($OR_{AG-GG/AA}=5.62, 95\%CI: 1.81, 17.48$) 的女性人群中, A>G 突变, 即 AG 和 GG 基因型可以更加显著的增加乳腺癌的患病易感性。

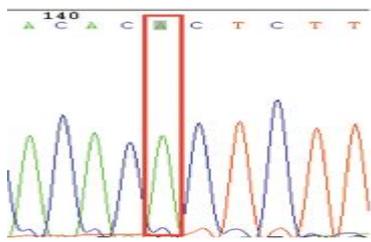


图 2 AA 基因型的测序结果

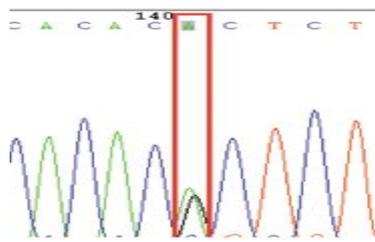


图 3 AG 基因型的测序结果

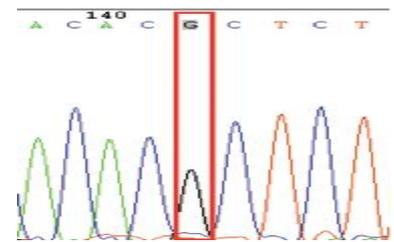


图 4 GG 基因型的测序结果

表 2 FGFR2 基因 rs1219648 基因型分布与青海地区回族女性乳腺癌患病风险 例(%)

组别	FGFR2rs1219648				
	AA	AG	GG	AG+GG	C 等位基因
对照组(n=110)	49(44.55)	44(40.00)	17(15.45)	61(55.45)	0.3545
病例组(n=110)	22(20.00)	66(60.00)	22(20.00)	88(80.00)	0.5000
P 值 ¹⁾			0.000		
$OR(95\%CI)^{2)}$ 下限, 上限	1.00	3.34(1.78, 6.28)	2.88(1.28, 6.47)	3.21(1.76, 5.85)	
$OR(95\%CI)^{3)}$ 下限, 上限	1.00	2.41(1.17, 5.00)	2.22(0.87, 5.71)	2.37(1.18, 4.73)	

注: 1) 病例组和对照组 FGFR2 rs1219648 基因型频率分布情况的 χ^2 检验结果; 2) 未校正混杂因素的患病风险; 3) 校正初潮年龄(>13 岁)、是否绝经、乳腺良性疾病史和乳腺癌家族史后乳腺癌的患病风险

表 3 FGFR2 基因 rs1219648 基因型分布与青海地区回族女性乳腺癌患病风险的分层分析

项目	AA	校正 $OR(95\%CI)$ 下限, 上限 [†]		
		AG	GG	AG+GG
初潮年龄				
≤13/ 岁	1.00	2.92(0.455, 18.77)	0.36(0.03, 4.17)	1.87(0.36, 6.68)
>13/ 岁	1.00	2.40(1.05, 2.50)	3.12(1.17, 9.40)	2.62(1.19, 5.76)
是否绝经				
否	1.00	6.04(1.04, 35.29)	13.80(1.26, 150.89)	6.99(1.25, 39.00)
是	1.00	2.02(0.89, 4.62)	1.60(0.54, 4.76)	1.91(0.87, 4.20)
乳腺良性疾病史				
无	1.00	3.20(1.12, 9.12)	4.73(1.29, 17.37)	3.55(1.31, 9.65)
有	1.00	1.88(0.61, 5.77)	1.03(0.25, 4.19)	1.62(0.55, 4.73)
乳腺癌家族史				
无	1.00	5.68(1.76, 18.35)	5.46(1.23, 24.17)	5.62(1.81, 17.48)
有	1.00	1.15(0.41, 3.24)	1.28(0.35, 4.72)	1.19(0.44, 3.18)

注: † 校正初潮年龄、是否绝经、乳腺良性疾病史和乳腺癌家族史(除分层因素之外)

3 讨论

FGFR2 是 FGFRs 家族的重要成员,位于 10 号染色体长臂 2 区 6 带(10q26),与大多数的受体酪氨酸蛋白激酶(receptor tyrosine kinases, RTKs)整体结构相似,属于单跨膜蛋白,在细胞增殖、黏附、迁移和侵袭以及血管增生过程中发挥重要作用^[3,10]。FGFR2 基因多态性与乳腺癌发病之间的关联早在 2007 年由 EASTON 等^[11]在进行全基因组关联研究分析时得到确认。随后, HUNTER 等^[12]在对高加索人群进行全基因组关联分析中进一步证实了 FGFR2 基因 rs1219648 位点多态性与绝经后女性乳腺癌发病之间的关联性。ANDERSEN 等^[13]通过对 1 677 例美国女性进行分析后,也证实了 FGFR2 基因 rs1219648 位点 A>G 的改变可能增加乳腺癌的患病风险。在中国,张敬平等^[9]通过对 1 460 例大样本人群的研究进一步证实 FGFR2 基因 rs1219648 位点单核苷酸多态性与汉族人群乳腺癌易感性存在关联。然而, LIANG 等^[14]通过对 1 049 名乳腺癌患者和 1 073 名正常人群进行 FGFR2 基因多态性与乳腺癌发病易感性的病例对照研究,结果发现伴有 FGFR2 基因多个位点(rs2981582、rs1219648 和 rs2420946)同时改变的女性,乳腺癌的发病风险显著性增加,单个位点突变效应则不明显。此外, RASKIN 等^[15]对 3 057 名犹太人进行 FGFR2 基因多态性与乳腺癌发病风险之间的关联研究,发现不同族系犹太人群 FGFR2 基因多态性与乳腺癌的关联程度不同。

本研究在青海地区回族女性人群中,采用病例对照研究探讨 FGFR2 基因 rs1219648 位点单核苷酸多态性与乳腺癌易感性之间的关系。结果显示, FGFR2 基因 rs1219648 位点 A>G 的改变可以显著地增加乳腺癌的患病风险(OR_{AG-GG/AA}=2.43, 95% CI: 1.12, 5.28),这种现象在初潮年龄(>13 岁)、绝经前、乳腺良性病史阴性和乳腺癌家族史阴性的女性中尤为明显。这一研究结果与 EASTON、HUNTER 和张敬平等的研究结果一致,但与 LIANG 和 RASKIN 等的结果不同,分析其原因可能为:①研究对象选择的局限性。本研究 110 例乳腺癌患者全部来自于青海大学附属医院住院人群,而正常对照则来自于健康体检人群,这使得研究对象的代表性有限,存在选择性偏倚。② FGFR2 基因多态性与肿瘤的关联可能与种族有关^[16]。本研究的研究对象均为久居青海地区回族女性人群,其独特的遗传背景和生活环境可

能影响肿瘤的发生发展。③本研究的样本量偏小。这主要与青海地区回族人群数量偏小有关。

此外,本研究结果还发现,在绝经前女性人群中, FGFR 基因 rs1219648 位点 A>G 的突变与乳腺癌易感性的关联更为显著,分别为 OR_{AG/AA}=6.04 (95% CI: 1.04, 35.29)、OR_{CC/AA}=13.80 (95% CI: 1.26, 150.89) 和 OR_{AG-GG/AA}=6.99 (95% CI: 1.25, 39.00), 而这一结果与 ANDERSEN 等^[13]的研究结果不一致。造成这一结果的主要原因可能是由于本研究样本量比较小($n=220$),且绝经前期女性所占比例较小(29.91%),导致分层分析结果不稳定,进而掩盖了该位点多态性与乳腺癌患病易感性之间的真实关联。扩充样本量,均衡绝经前后受试者比例,有助于深入研究 FGFR 基因 rs1219648 位点 A>G 突变对乳腺癌患病易感性的影响。

但是,值得注意的是,本研究进一步在青海地区回族女性人群中证实了 FGFR2 基因 rs1219648 位点 A>G 的改变能够显著地增加该地区女性乳腺癌的患病易感性,提示该位点基因型的多态性可能是改变该地区女性乳腺癌患病易感性的遗传因子。此外,由于不同地域人群生活环境和遗传背景存在差异,大样本的深入研究仍需在该地区进一步开展。

参 考 文 献:

- [1] 陈万青, 郑荣寿. 中国女性乳腺癌发病死亡和生存状况[J]. 中国肿瘤临床, 2015, 42(13): 668-674.
- [2] 周脉耕, 王晓风, 胡建平, et al. 2004-2005 年中国主要恶性肿瘤死亡的地理分布特点[J]. 中华预防医学杂志, 2010, 44(4): 303-308.
- [3] 张丽霞, 李庆霞. 成纤维生长因子受体 1 在乳腺癌中的研究进展[J]. 医学研究生学报, 2014, 27(8): 884-887.
- [4] 单连峰, 高岩峰, 马建忠. 中国汉族女性人群成纤维细胞生长因子受体 2 基因多态性与乳腺癌易感性的研究[J]. 山西医药杂志, 2011, 40(9): 857-860.
- [5] 张敬平, 钱云, 王福如, 等. 成纤维细胞生长因子受体 2(FGFR2)多态性与乳腺癌易感性的关联研究[J]. 中华疾病控制杂志, 2010, 14(8): 764-767.
- [6] 李欣. 中国汉族女性乳腺癌易感位点的筛选及常见危险因素的 Meta 分析[D]. 南方医科大学, 2011.
- [7] 刘美, 单可人, 何燕, 等. 贵州汉族人群乳腺癌与 FGFR2 rs1219648 多态性相关性研究[J]. 中国肿瘤临床, 2010, 37(1): 29-31.
- [8] 潘琳, 胡小平, 郭卫东, 等. FGFR2 基因 rs2981582 和 rs1219648 与乳腺癌相关性研究[J]. 宁夏医科大学学报, 2014, 36(8): 853-860.
- [9] 沈国双, 赵久达, 耿排力, 等. 青海地区汉、回族女性 FGFR2 基因多态性与乳腺癌相关性的初步研究[J]. 青海医学院学报, 2011, 32(4): 222-225.
- [10] TURNER N, GROSE R. Fibroblast growth factor signalling: from

- development to cancer[J]. *Nature reviews Cancer*, 2010, 10(2): 116-129.
- [11] EASTON DF, POOLEY KA, DUNNING AM, et al. Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci [J]. *Nature*, 2007, 447(7148): 1087-1093.
- [12] HUNTER D J, KRAFT P, JACOBS K B, et al. A genome-wide association study identifies alleles in FGFR2 associated with risk of sporadic postmenopausal breast cancer[J]. *Nature genetics*, 2007, 39(7): 870-874.
- [13] ANDERSEN S W, TRENTAM-DIETZ A, FIGUEROA J D, et al. Breast cancer susceptibility associated with rs1219648 (fibroblast growth factor receptor 2) and postmenopausal hormone therapy use in a population-based United States study [J]. *Menopause*, 2013, 20(3): 354-358.
- [14] LIANG J, CHEN P, HU Z, et al. Genetic variants in fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2) contribute to susceptibility of breast cancer in Chinese women[J]. *Carcinogenesis*, 2008, 29(12): 2341-2346.
- [15] RASKIN L, PINCHEV M, ARAD C, et al. FGFR2 is a breast cancer susceptibility gene in Jewish and Arab Israeli populations[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2008, 17(5): 1060-1065.

(张蕾 编辑)